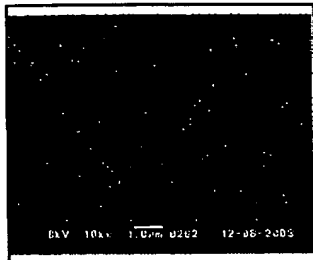


BEST COPY AVAILABLE

JP2005290610A

**Title:**

NANOSCALE FIBER AND FORMED PRODUCT OF POLYSACCHARIDES

Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a nanoscale fiber which is made of polysaccharides as a material and usable as a scaffold or a support of a cell tissue and as a part of a substrate for biological tissue culture and a biological material (an artificial valve, an artificial organ, an artificial blood vessel, a wound covering material, etc.) for the purpose of repairing, regenerating and treating substitute skin or a defective tissue as a medical material in the medical field, especially in regeneration medicine, has excellent supply of oxygen or nutrients and is expectable of efficient proliferation and differentiation of cells and to further provide a nonwoven thin film composed of the fiber and a formed product processed therewith.

SOLUTION: The nanoscale fiber which is made of the polysaccharides as a main raw material, obtained by a method for electrostatic spinning and characterized as having ≤ 500 nm diameter. The nanoscale fiber of the polysaccharides which is the fiber of a composite composition containing an additive other than the polysaccharides or fiber of the polysaccharides alone. The nanoscale fiber of the polysaccharides has 1- 100 nm diameter. The nonwoven thin film is composed of the fiber and the nonwoven thin film is composed of an aggregate of the fiber and a microfiber having >500 nm diameter. The medical material comprises the fiber and the medical material comprises the nonwoven thin film.

COPYRIGHT: (C)2006,JPO&NCIPI

Assignee:TANIOKA AKIHIKO
KYOWA TECHNOS:KK**Inventor:**TANIOKA AKIHIKO
SEO HIROSHI
YAKO HIROSHI
MATSUMOTO HIDETOSHI
HARA SEI
MINAGAWA YOSHIE**Publication Date:** 2005-10-20**Application Date:** 2004-03-31**Cites:** 0**Cited By:** 0**Intl Class:** D01F00900; D04H00172; D04H00142; C08B03708; C08B03706; A61L02700**US Class:****Field of Search:****Technology Codes:****Product Codes:**

(19) Japanese Patent Office

(11) JP 2005290610 A

(45) 20051020

(21) Application number: 2004107168

(51) Int Cl.: D01F00900, A61L02700, C08B03706,
C08B03708, D04H00142, D04H00172

(22) Date of filing: 20040331

(54) NANOSCALE FIBER AND FORMED PRODUCT OF POLYSACCHARIDES

(72) Inventor(s): TANIOKA AKIHIKO
MATSUMOTO HIDETOSHI
MINAGAWA YOSHIE
HARA SEI
YAKO HIROSHI
SEO HIROSHI(73) Assignee(s): TANIOKA AKIHIKO
KYOWA TECHNOS:KK

(57) PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a nanoscale fiber which is made of polysaccharides as a material and usable as a scaffold or a support of a cell tissue and as a part of a substrate for biological tissue culture and a biological material (an artificial valve, an artificial organ, an artificial blood vessel, a wound covering material, etc.) for the purpose of repairing, regenerating and treating substitute skin or a defective tissue as a medical material in the medical field, especially in regeneration medicine, has excellent supply of oxygen or nutrients and is expectable of efficient proliferation and differentiation of cells and to further provide a nonwoven thin film composed of the fiber and a formed product processed therewith.

SOLUTION: The nanoscale fiber which is made of the polysaccharides as a main raw material, obtained by a method for electrostatic spinning and characterized as having ≤ 500 nm diameter. The nanoscale fiber of the polysaccharides which is the fiber of a composite composition containing an additive other than the polysaccharides or fiber of the polysaccharides alone. The nanoscale fiber of the polysaccharides has 1-100 nm diameter. The nonwoven thin film is composed of the fiber and the nonwoven thin film is composed of an aggregate of the fiber and a microfiber having >500 nm diameter. The medical material comprises the fiber and the medical material comprises the nonwoven thin film.

COPYRIGHT: (C)2006,JPO& NCIP

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2005-290610

(P2005-290610A)

(43) 公開日 平成17年10月20日(2005.10.20)

(51) Int. Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
DO1F 9/00	DO1F 9/00 A	4C081
A61L 27/00	DO1F 9/00 Z	4C090
C08B 37/08	A61L 27/00 V	4L035
C08B 37/08	C08B 37/06	4L047
DO4H 1/42	C08B 37/08 A	

審査請求 未請求 請求項の数 7 O L (全 15 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2004-107168 (P2004-107168)
 (22) 出願日 平成16年3月31日 (2004.3.31)

特許法第30条第1項適用申請有り

(71) 出願人 592256553
 谷岡 明彦
 東京都大田区石川町2-3-16-417
 (71) 出願人 593075544
 株式会社共和テクノス
 千葉県山武郡芝山町小池2759-3
 (74) 代理人 100102314
 弁理士 須藤 阿佐子
 (74) 代理人 100123984
 弁理士 須藤 晃伸
 (72) 発明者 谷岡 明彦
 東京都大田区石川町2丁目3番16号-4
 17

最終頁に続く

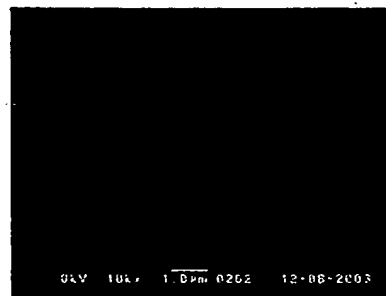
(54) 【発明の名称】 多糖類のナノスケールの繊維および成形体

(57) 【要約】

【課題】 医療分野の医用材料、特に、再生医療における生体組織培養の基材および生体組織の欠損、修復、再生、治療を目的とした生体材料（人工弁、人工臓器、人工血管、創傷被覆材等）の一部として、細胞組織の足場や支持体であって、酸素や栄養素の供給にも優れ、効率良く細胞の増殖や分化が期待でき、素材が多糖類でナノスケールの繊維であり、さらにはそれを構成し得られる不織性の薄膜、およびそれらで加工した成形体の提供。

【解決手段】 静電紡糸法によって得られる多糖類を主原料とする繊維であって、直径が500nm以下であることを特徴とする多糖類のナノスケールの繊維。多糖類以外の添加物を含む複合組成物あるいは多糖類単独の繊維である上記の多糖類のナノスケールの繊維。直径が1~100nmである上記の多糖類のナノスケールの繊維。上記の繊維からなる不織性の薄膜。上記の繊維および直径500nmを超えるマイクロ繊維の集合体からなる不織性の薄膜。上記の繊維を含む医用材料。上記の不織性の薄膜を含む医用材料。

【選択図】 図3



【特許請求の範囲】

【請求項1】

静電紡糸法によって得られる多糖類を主原料とする繊維であって、直径が500nm以下であることを特徴とする多糖類のナノスケールの繊維。

【請求項2】

多糖類以外の添加物を含む複合組成物あるいは多糖類単独の繊維である請求項1の多糖類のナノスケールの繊維。

【請求項3】

直径が1~100nmである請求項2の多糖類のナノスケールの繊維。

【請求項4】

請求項1の繊維からなる不織性の薄膜。

【請求項5】

請求項1の繊維および直径500nmを超えるマイクロ繊維の集合体からなる不織性の薄膜。

【請求項6】

請求項1の繊維を含む医用材料。

【請求項7】

請求項4または5の不織性の薄膜を含む医用材料。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、静電紡糸法によって得る多糖類のナノスケールの繊維、その薄膜等の成形体に関する。より詳細には本発明は、医療分野の医用材料、特に、再生医療分野における生体組織培養の足場として用いることができ、また、生体材料（人工弁、人工臓器、人工血管、創傷被覆材等）の一部として生体組織の皮膚や臓器等の修復、再生、治療に用いることができる。また、多糖類のナノスケールの繊維によって構成された不織性の3次元構造を有する薄膜に関する。

【背景技術】

【0002】

再生医療は、1998年の米国において、骨、軟骨、皮膚、神経、筋肉、血管や各臓器への再生能力の可能性を秘めたヒト胚性幹（ES）細胞が樹立され、ゲノム医療と並んで注目されている分野である。再生医療は、細胞や組織を培養し、機能を失った生体組織を再生させたり、臓器機能を代替したりする生体組織工学的な技術分野で新しい医療である。再生医療の生体組織工学で重要なアプローチが再生の場の構築である。再生の場には、水溶性高分子素材や生体材料が多く使われている。機能性に優れた足場材料の開発がこれまで以上に求められている。

一般に、医用材料として生体材料に要求される条件は、生体機能性（用途に応じた性能や効果）、生体安全性（毒性がない）、可滅菌性（感染防止のための滅菌ができる）、生体適合性（生体に対する親和性）がある。また、生体組織培養および生体材料の一部として、細胞や組織の足場となる条件には、上記の条件以外に、1）適度な力学的強度、2）生体吸収性、3）細胞接着における十分な比表面積の確保、4）栄養や酸素供給が可能な隙間構造、等が挙げられる。

【0003】

生体内での細胞組織の足場は、コラーゲンやムコ多糖類（生体内ではタンパク質と結合しプロテオグリカンとして存在）に代表される細胞外物質（細胞外マトリクス）であり、細胞が増殖し正常機能を発揮するために必要な細胞接着に深く関わっている。

天然高分子として多糖類は、生体親和性が高く、細胞毒性がないばかりでなく、成形加工性もあって、医用材料の素材として注目されている。この多糖類を素材として、適度な力学的強度があつて、細胞との親和性が高く、細胞接着における比表面積を十分に確保でき、栄養や酸素供給可能な密度を有する材料が得ることができれば、従来からあるコラーゲンや合成高分子素材からなる材料の代替として利用できるばかりでなく、これまで以上

10

20

30

40

50

に細胞との界面制御の可能性が広がる。

【0004】

細胞と界面制御する手段としてナノテクノロジーが用いられはじめている。ナノテクノロジーとは、1nm～100nmの規模の原子や分子を操作・制御して、物質の構造や配列を変え、新しい機能やより優れた特性を作り出すことができる革新的技術として注目されており、その発展は目覚ましいものがあって、ITやエレクトロニクス、バイオなど様々な分野で着々と実用化が進められている（非特許文献1および2）。繊維の世界では、従来の実用繊維が20～50μmとすると、最近では合成高分子素材で海島型等の複合紡糸技術による極細繊維、超極細繊維と呼ばれる、平均直径が2～5μm、いわゆるマイクロファイバーの製品化やより細い繊維（サブミクロンサイズ以下）の実用化に向けた開発が進められている段階である。一般に平均直径が100nm以下（1mmの1万分の1以下）、いわゆるナノサイズになると、比表面積が各段に大きくなることが知られている（非特許文献3）。しかし、現状の技術では天然素材の分野において、工業規模でナノスケール～サブミクロンスケールの繊維を紡糸できる技術は未だ確立されていない。

10

【0005】

最近、静電紡糸の技術を用いた方法がナノスケールの繊維を得るための手段として注目されている。静電紡糸法は今から70年以上も昔に考案され、繊維やフィルム、不織布をつくる技術として開発されたものであるが、現在、質量分析でも応用されている技術である。特にこの方法によって紡糸する製造方法をエレクトロスプレースピニング（ESP）法とも呼び、また得られる薄膜や不織布の製造法をエレクトロスプレーデポジション（ESD）法とも呼んでいる（非特許文献4）。

20

その特徴は、従来の商業的紡糸方法とは異なり、高電圧下で高分子素材を帯電させ表面反発力によって紡糸する方法である。これまでに静電紡糸法で応用検討された素材としては、合成高分子系ではポリビニルアルコール、ポリエチレンオキシド、ポリビニルピロリドン、ポリアクリルアミド、ポリウレタン、ポリカーボネート、ポリテトラフルオロエチレン、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリアクリレート、ポリヒドロキシブチレート、ポリアニリン、アラミド系等があり、天然高分子系ではデオキシリボ核酸、コラーゲン、α-ラクトアルブミン、インベルターゼ、絹フィブロイン等がある。しかし、多くの形成される繊維は、素材によって溶液の物性パラメータとして濃度や分子量、粘度、表面張力、電気伝導度、誘電率、印加電圧、湿度、等が異なっており、多糖類の条件を予測することは極めて困難であった。

30

【0006】

【特許文献1】特表2003-521493号公報

【非特許文献1】ナノテクノロジー入門（オーム社、2002年）

【非特許文献2】ナノテクノロジー特集（日本経済新聞、2003年10月6日）

【非特許文献3】超極細化による汎用繊維革新への挑戦（化学工学、第68巻、第1号、p36-37、2004）

【非特許文献4】繊維の世界を変えるナノファイバーテクノロジー研究開発事例ESD法による高分子ナノファイバーの製造（工業材料、vol51, No.9, p29-33, 2003）

40

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

キチンやキトサン、ヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸等の多糖類は細胞外物質としてコラーゲンと同様に細胞の増殖や分化の足場の素材として重要であり、医用材料として利用できる可能性が考えられる。天然高分子で優れた機能を有する多糖類の静電紡糸について若干の言及はあるが実施例で裏付けされたものではなく（特表2003-521493号公報）、また、天然有機物の超微細化繊維について、繊維を溶媒中に分散しせん断力によって得るもので繊維径が均一なナノスケールの繊維を得ることはできず（特開2003-155349号公報）、ナノスケールの粒子のキトサンに関して記述はあるが製法は静電紡糸ではない（特表2002-536392号公報）。以上のように製法や性状が異なる種々のナノスケールの物体はあ

50

るが、静電紡糸法によってできた多糖類のナノスケールの繊維や薄膜についてはこれまで、のところなかった。静電紡糸法によれば、ナノスケールの粒子や繊維などが作製できるばかりでなく、これらが集積されて多孔性や不織性の薄膜もできる。また、表面に様々なコーティング加工もでき応用展開が可能である。

【0008】

本発明は、医療分野の医用材料、特に、再生医療における生体組織培養の基材および生体組織の欠損、修復、再生、治療を目的とした生体材料（人工弁、人工臓器、人工血管、創傷被覆材等）の一部として、細胞組織の足場や支持体であって、酸素や栄養素の供給にも優れ、効率良く細胞の増殖や分化が期待でき、素材が多糖類でナノスケールの繊維であり、さらにはそれを構成し得られる不織性の薄膜、およびそれらで加工した成形体を提供することを目的としている。

10

【課題を解決するための手段】

【0009】

本発明者は、上記課題を解決するために、鋭意に検討した結果、動物、植物、海藻、微生物等に含まれる多糖類を素材に用いて、従来の商業的な紡糸方法ではなく、本発明者が先に出願した装置（出願番号；特願2003-040642）を使用して、静電紡糸法によって、多糖類を素材としたナノスケールの繊維（ナノファイバー）が得られることを見出した。この技術によれば、多糖類からなるナノスケールの繊維で構成され、薄く緻密で不織性を示し、3次元構造で高い比表面積を有する薄膜が得られることを確認し、本発明に至った。すなわち、本発明は、静電紡糸法による多糖類のナノスケールの繊維および成形体の特徴とする。

20

【0010】

本発明は、以下の（１）～（３）の多糖類のナノスケールの繊維を要旨としている。

（１）静電紡糸法によって得られる多糖類を主原料とする繊維であって、直径が500nm以下であることを特徴とする多糖類のナノスケールの繊維。

（２）多糖類以外の添加物を含む複合組成物あるいは多糖類単独の繊維である上記（１）の多糖類のナノスケールの繊維。

（３）直径が1～100nmである上記（２）の多糖類のナノスケールの繊維。

【0011】

本発明は、以下の（４）～（５）の不織性の薄膜を要旨としている。

30

（４）上記（１）の繊維からなる不織性の薄膜。

（５）上記（１）の繊維および直径500nmを超えるマイクロ繊維の集合体からなる不織性の薄膜。

【0012】

本発明は、以下の（６）～（７）の医用材料を要旨としている。

（６）上記（１）の繊維を含む医用材料。

（７）上記の（４）または（５）の不織性の薄膜を含む医用材料。

【発明の効果】

【0013】

本発明は、静電紡糸法によって得られる多糖類のナノスケールの繊維であって、安全性が高く、細胞毒性がなく、比表面積が大きく、その薄膜、および医用材料等の成形体を提供することができる。

40

特に、再生医療における生体組織培養の基材および生体組織の欠損、修復、再生、治療を目的とした生体材料（人工弁、人工臓器、人工血管、創傷被覆材等）の一部として用いられ、細胞組織の足場や支持体であって、酸素や栄養素の供給にも優れ、効率良く細胞の増殖や分化が期待できる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0014】

以下、本発明について詳しく説明するが、本発明に関して何ら拘束されるものではない。

50

本発明は、再生医療における生体組織培養の基材および代替皮膚や欠損組織の修復、再生、治療を目的とした生体材料（人工弁、人工臓器、人工血管、創傷被覆材等）の一部であり、細胞組織の足場や支持体であって、酸素や栄養素の供給にも優れ、効率良く細胞の増殖や分化が期待できる。多糖類でナノスケールの繊維であり、さらには不織性の薄膜、およびそれらで加工された医用材料等の成形体に関する。

すなわち、本発明の多糖類繊維、平均直径が数nm～数100nmのナノスケールの繊維、いわゆるナノファイバーであるが、静電紡糸法によって連続的に大規模に紡糸できるもので、例えば図1記載のような装置を用いることで達成できる。その装置には、電極（白金線等）を挿入したキャピラリー（ガラス製等）、導電性の基板（アルミニウム製等）等が装備されている。その原理は、大気圧下で、高分子溶液の入ったキャピラリーのノズル先端と基板間に、2,000V～20,000Vの高電圧を印加すると、ノズル先端で高分子溶液の電氣的反発力が表面張力よりも高くなって噴射され、条件によって粒子状や紡錘状、繊維状の構造体が乾燥されて基板上に集積される。

【0015】

静電紡糸法によって形成される繊維には、高分子素材の分子量、溶液の濃度、粘度、温度、表面張力、電気伝導度、誘電率等の物性、印加電圧、キャピラリー先端口径等のパラメータの条件があって高分子素材によって異なる。本発明においても、これらの条件と用いる溶媒や添加物の組み合わせによって繊維状物が得られる最適な範囲を見出した結果、多糖類素材で、直径が数nm～数100nmであるナノスケールの繊維とそれらで構成される2次元、3次元的に広がりを持った不織性の薄膜が安定的に得ることができた。

【0016】

本発明に関する高分子素材とは多糖類である。多糖類とは、植物や海藻、甲殻、微生物、キノコなどに存在するもので特に限定するものではない。また、多糖類の種類は、一般に大別すると天然物と半合成品に分けられるが特に限定するものではない。多糖類はグルコース（水酸基をもつ中性糖やアミノ基やカルボキシル基などの官能基をもつアミノ糖や酸性糖等もある）等の単糖がグリコシド結合により多く連なった形のもので、一般に、細胞毒性がなく、構成糖や官能基、分子量によってそれぞれ固有の性質を持ち、なおかつ資源が豊富にある。多糖類はすべての生物に存在する重要な成分であるが、単なる細胞間の充填や組織の支持体としての役割以外にも、細胞間の情報伝達や細胞認識（自己非自己、免疫）、組織構築、発生や細胞分割等に深くかかわっている。また、その他にも抗ガン、抗ウイルス、免疫賦活、抗炎症等の機能が知られている。これら多糖類は、安全面で高く評価されているので、食品素材をはじめ、医用素材や医薬素材等に広く利用されている。

【0017】

例えば、静電紡糸法で用いられる素材としては、動物性ではキチン、キトサン、ヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸、ヘパリン、ケラト硫酸等のムコ多糖がある。植物系では、セルロース、ペクチン、キシラン、リグニン、グルコマンナン、ガラクトロン、サイリウムシードガム、タマリンド種子ガム、アラビアガム、トラガントガム、大豆水溶性多糖等がある。海藻系では、アルギン酸、カラギーナン、ラミナラン、寒天（アガロース）、フコイダン等がある。カビやきのこ等を含む微生物系では、プルラン、デキストラン、カードラン、レンチナン、キサンタンガム等がある。また、それら多糖類の誘導体も利用できる。

【0018】

これら多糖類の素材は溶解してもそのまま懸濁しても構わないが、好ましくは溶解する方がよい。その理由としては、溶液であれば、多糖類がナノ繊維の中心から表面にかけて均一に分散し、繊維の機能を最大限に発揮することができる。一方、多糖類を懸濁する場合には、ナノ繊維よりも小さくし均一な粒子が必要であり、そのような粒子をまず製造することは非常に困難で実用的とは言えない。多糖類の溶媒としては、水、酸、アルカリ、エタノール、メタノール、アセトン、トルエン等があげられるが、多糖類の溶解性を考慮して選択すればよく、少なくとも1種類、あるいは溶液の物性を変えるために複数使用しても何ら問題にはならないが、好ましくは弱酸～中性～弱アルカリの溶媒であって、精製

水やエタノール水、生理食塩水、各種緩衝液（リン酸緩衝液、酢酸緩衝液等）等が望ましい。また、多糖類の分子量としては、多糖類の種類や抽出方法によって一定でなく、分子量が数千のものもあれば、数万から数100万のものもあって、特に限定するものではない。一般に分子量が大きいほど繊維構造を形成しやすく強度のある繊維が得やすく、分子量が小さいほど粒子構造を形成しやすく、好ましくは分子量が1万～500万で、最も好ましくは3万～300万である。溶液の粘度としては、分子量が大きいほど、濃度が高いほど粘度が高く、溶液の温度やpHでも変わるが、一般に粘度が高いほど細く長い繊維が得やすく、粘度が低いほど細く短い繊維や粒子が得やすく、好ましくは1,000mPa・s以下であり、最も好ましくは500mPa・s以下である。多糖類の濃度としては、粘度が1,000mPa・sを超えなければ特に限定するものではないが、一般に濃度が高いほど繊維構造を得やすく、濃度が低いほど細く短い繊維や粒子が得やすく、好ましくは0.5%～50%であり、最も好ましくは1%～30%である。また、溶液の電気伝導度や誘電率等の物性は、紡糸した際の荷電状態に影響するが、一般に電気伝導度が低いほど静電紡糸法に適しており、多糖類の溶液を透析膜や電気透析、UF膜やNF膜、RO膜等で脱塩処理するか、あるいは多糖類をエタノールやアセトンなどを用いて溶媒沈殿させて洗浄してから用いるのが望ましい。溶液の電気伝導度としては、好ましくは600mS/cm以下であり、最も好ましくは100mS/cm以下である。溶液の温度は、多糖類や含まれる添加物の機能や活性が損なわない限りにおいては、特に温度を制限するものではなく、室温でも冷やしても加熱しても構わないが、好ましくは0～100℃、最も好ましくは4～80℃である。これら多糖類の溶液は、不溶解物等がある場合には遠心分離あるいはメンブランフィルターで濾過すればよい。例えば、遠心分離であれば、3,000rpm・10分間以上、メンブランフィルターであれば、0.2μm～10μmの孔径で処理すればよい。

【0019】

次に、使用する多糖類は単独または複数の多糖類を混合して使用することもできる。混合に際して中性多糖同士の間組み合わせはもちろん良好である。それ以外では、好ましくは中性多糖に対して塩基性多糖或いは酸性多糖の組み合わせであり、塩基性多糖と酸性多糖との組み合わせは凝集沈殿を起こすので避ける必要がある。また、多糖類単独での繊維作成も可能であるが、性能を最大限に発揮させるために必要に応じて、添加物として、合成高分子や繊維の改質剤、生理活性物質（細胞接着活性因子、細胞増殖因子、繊維芽細胞成長因子、免疫活性因子、神経作用因子等）、血清成分、生物組織成分、界面活性剤等を加える方が望ましい。例えば、多糖類以外の添加物としては、ポリエチレングリコール、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ポリ乳酸、絹フィブロイン、プロテオグリカン、フィブロンectin、ヴィトロネクトin、エンタネクトin、エラスチン、ラミニン、セレクチン、ガレクチン、レクチン（WGA、コンカナバリンA等）、コラーゲン、ゼラチン、酵素（コラゲナーゼ、トリプシン、グルコシダーゼ、プロテインキナーゼ、ウロキナーゼ、SOD等）、アルブミン、フィブリン、フィブリノーゲン、ポリ-L-リジン、ポリ-L-グルタミン酸、細胞外マトリクスタンパク質、インテグリン、アミノ酸（グリシン、プロリン、ヒドロキシプロリン、アラニン、セリン、アスパラギン、グルタミン酸、スレオニン、システイン、ロイシン、メチオニン等）、ジペプチド、トリペプチド、ペプチドタンパク質（チロシン-イソロイシン-グリシン-セリン-アルギニン配列、アルギニン-グルタミン酸-アスパラギン酸-バリン配列、アルギニン-グリシン-アスパラギン酸配列を含む）、グリコサミノグリカン、ムチン型結合糖鎖、アスパラギン型結合糖鎖、オリゴ糖（トレハロース、キチンオリゴ糖、キトサンオリゴ糖、ガラクトオリゴ糖、フルクトオリゴ糖、キシロオリゴ糖、シクロデキストリン等）、単糖（マンノース、N-アセチル-D-グルコサミン、グルコサミン、N-アセチル-D-ガラクトサミン、シアル酸、ムラミン酸、グルコース、ガラクトース、ラクトース、フコース、アラビノース等）、ガングリオシド、スフィンゴ脂質、糖脂質（アルキルグリコシド、ガラクトシルセラミド等）、ショ糖脂肪酸エステル、脂肪酸エステル（DHA、EPA等）、長鎖脂肪酸（アラキドン酸、リノール酸、レチノイン酸等）、グリセロール、多価アルコール、コレステロール、スクアレン、プロスタグランジン、トロンボキサン、ロイコトリエン、ステロイド、インシュリン、ト

10

20

30

40

50

ランスフェリン、デキサメタゾン、ヒドロコルチゾン、チロキシン、トリヨードチロシン、 β -メルカプトエタノール、アセチルコリン、酸類（乳酸、リンゴ酸、アスコルビン酸、グルコン酸、グルクロン酸、パントテン酸、ピルビン酸等）、グリチルリチン、ルチン、ステビオシド、サポニン、アルブチン、ポリフェノール（カテキン）、SOD様活性物質、インターフェロン、インターロイキン、サイトカイン、ケモカイン、TNF- α 、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、補体因子、遺伝子、DNA、RNA、アデニン、牛胎仔血清、ビタミン類、無機塩類、シリコン、セラミック、アパタイト、ポリオキシエチレンソルビタンモノオレエート、エチレンジアミンテトラ酢酸等がある。添加物は溶解しても粉末で使用しても構わないが、好ましくは溶解する。添加物の溶媒としては、水、酸、アルカリ、エタノール、メタノール、アセトン、トルエン等があげられるが、添加物の溶解性を考慮して選択すればよく、少なくとも1種類、あるいは複数使用しても何ら問題にはならないが、好ましくは弱酸～中性～弱アルカリの溶媒であって、精製水やエタノール水、生理食塩水、各種緩衝液（リン酸緩衝液、酢酸緩衝液等）が望ましい。

【0020】

キャピラリーの口径は、目的に応じて自由に選択すればよく、特に限定するものではないが実施例では50 μ mの口径を使用している。基板は導電性のある素材であればよく、アルミニウム等がよく使われるが、その他の導電性素材であっても構わない。キャピラリーから基板までの距離は、自由に選択すればよく、特に限定するものではないが、実施例では30mm～100mmとしている。印加電圧は、溶液の性状によって変えればよく、電圧が高いほど細長い繊維が得やすく、低い場合には繊維構造になりにくく、短い繊維や粒子が得やすく、好ましくは2,000v～50,000vであるが、最も好ましくは4,000v～20,000vである。溶液の粘性が高い場合には、印加電圧をあげれば良いが、シリンジポンプ等で補助的に上部から加圧してもよく、得られる繊維や被膜の性質等の大きな影響はなく何ら問題にはならない。その他に繊維や薄膜に影響するものとしては、装置内の湿度があるが、湿度70%以上になると安定的に紡糸することができないので適用は70%未満であり、好ましくは10%～30%で一定に保つ必要がある。

【0021】

基板に集積された繊維や不織性の薄膜は、強度を得るために架橋しても構わない。架橋剤としてはグルタルアルデヒド、カルボジイミド、カルボニルイミダゾール、ジエポキシ化合物、ジカルボン酸無水物、エピクロロヒドリン等がある。これら架橋した後は、アセトン、エタノール、精製水や生理食塩水、各種緩衝液等で架橋剤が残存しないように洗浄する。

【0022】

本装置の原理を応用すれば、どんな形状や大きさの基板でも噴射でき、ナノスケールの繊維を基材上へ堆積させることができる。また、基板に直接噴霧するのではなく、基材としてガラス、プラスチック、不織布等に直接噴霧し表面にコーティングすることもできる。例えば、細胞培地の基材や生体材料（人工弁、人工臓器、人工血管、人工骨、人工歯、人工皮膚等）の材料の表面に直接噴霧することもできる。また、異なる溶液を調製し、同一基板上にそれぞれ噴霧処理することで性質の異なる薄膜を幾重にも重ねることもできる。例えば、合成高分子層（支持層）と多糖類層からなる2層構造の薄膜も可能である。また薄膜を基板から剥がし、被覆材として創傷患部である生体組織に貼り付けたり、埋没させたりもできる。

【0023】

多糖類のナノスケールの繊維およびその繊維からなる不織性の薄膜は、従来の多糖繊維よりも極細なので比表面積が大きく、細胞への接着面積が広がる。細胞の増殖や分化に最適な足場となり、再生医療分野における医用材料である生体組織培養の基材および人工臓器や創傷被覆材等の生体材料の一部として利用できる。

【0024】

以下に本発明の実施例を記載するが、本発明はこれらに何ら限定されるものではない。

【実施例1】

10

20

30

40

50

【0025】

図1記載の静電紡糸装置を用いた。試料はカニ殻から分離精製されたキトサン (Mw12万、株式会社共和テクノス製) を用いた。試料の濃度は10%である (w/v, 溶解剤として酢酸を5%含む)。この試料液 (粘度120cp/20℃) を先端口径が50 μ mのキャピラリーに充填し、電圧を印加した (室温下、大気圧、湿度20%)。その結果、アルミニウム基板 (1cm \times 1cm) 上にナノスケールの繊維からなる不織性の薄膜が観察された (図2)。

【実施例2】

【0026】

図1記載の静電紡糸装置を用いた。試料はカニ殻から分離精製されたキトサン (Mw7万、株式会社共和テクノス製) を用いた。試料液の濃度は10%である (w/v, 溶解剤として酢酸を5%含む)。この試料液に添加剤として5%ポリエチレングリコール (Mw50万、和光純薬工業株式会社製) を6:4の重量比で加え (粘度120cp/20℃)、先端口径が50 μ mのキャピラリーに充填し、印加電圧は9.13kVで実施した (室温下、大気圧、湿度20%)。その結果、アルミニウム基板 (1cm \times 1cm) 上に直径98-386nmのナノスケールの繊維からなる不織性の薄膜が観察された (図3)。

【実施例3】

【0027】

図1記載の静電紡糸装置を用いた。試料はサメ軟骨から分離精製されたコンドロイチン硫酸ナトリウム (Mw11万、株式会社堺商事製) を用いた。試料液の濃度は10%である (w/v, 蒸留水で溶解)。この試料液に添加剤として5%ポリエチレングリコール (Mw50万、和光純薬工業株式会社製) を8:2の重量比で加え (粘度78cp/70℃)、先端口径が50 μ mのキャピラリーに充填し、印加電圧は16.53kVで実施した (室温下、大気圧、湿度20%)。その結果、アルミニウム基板 (1cm \times 1cm) 上に直径115-304nmのナノスケールの繊維からなる不織性の薄膜が観察された (図4)。

【実施例4】

【0028】

図1記載の静電紡糸装置を用いた。試料は柑橘類から分離精製されたペクチン (Mw51万、和光純薬工業株式会社製) を用いた。試料液の濃度は5%である (w/v, 蒸留水で溶解)。この試料液に添加剤として5%ポリエチレングリコール (Mw50万、和光純薬工業株式会社製) を6:4の重量比で加え (粘度26cp/70℃)、先端口径が50 μ mのキャピラリーに充填し、印加電圧は10.89kVで実施した (室温下、大気圧、湿度20%)。その結果、アルミニウム基板 (1cm \times 1cm) 上に直径75-267nmのナノスケールの繊維からなる不織性の薄膜が観察された (図5)。

【実施例5】

【0029】

図1記載の静電紡糸装置を用いた。試料はカニ殻から分離精製されたキトサン (Mw3万、株式会社共和テクノス製) を用いた。試料液の濃度は10%である (w/v, 溶解剤として酢酸を5%含む)。この試料液に添加剤として15%ポリビニルピロリドン (Mw36万、和光純薬工業株式会社製) を1:1の重量比で加え (粘度120cp/20℃)、先端口径が50 μ mのキャピラリーに充填し、印加電圧は14.00kVで実施した (室温下、大気圧、湿度20%)。その結果、アルミニウム基板 (1cm \times 1cm) 上に直径70-210nmのナノスケールの繊維からなる不織性の薄膜が観察された (図6)。

【実施例6】

【0030】

(自立薄膜の作製)

図1記載の静電紡糸装置を用いた。試料はカニ殻から分離精製されたキトサン (Mw3万、株式会社共和テクノス製) を用いた。試料液の濃度は10%である (w/v, 溶解剤として酢酸を5%含む)。この試料液に添加剤として5%ポリエチレングリコール (Mw50万、和光純薬工業株式会社製) を8:2の重量比で加え (粘度115cp/22℃)、先端口径が50 μ mのキャピラリーに充填し、基板上にアルミ箔を敷き、印加電圧は16kVで実施した (室温下、大

気圧)。装置内の湿度が異なる条件下で実施した結果、繊維径の異なる2種類の薄膜を得た。それぞれの薄膜について繊維径を測定したところ直径100-300nmの薄膜(湿度20%)と直径500-1000nmの薄膜(湿度35%)であった。次ぎに、薄膜はアルミ箔に付着状態のままメタノールと1N苛性ソーダ(重量比99:1)の混合溶媒に室温で2時間浸漬した後、アルミ箔から剥がした。更に純水で洗浄し室温で風乾して不溶性の自立膜を得た。

【実施例7】

【0031】

(タンパク質吸着試験)

本試験にはタンパク質として牛血清アルブミン(シグマ製)を用い、蒸留水で1%牛血清アルブミン溶液とした。その溶液を乾燥した薄膜(湿度20%条件、繊維径100nm-300nm)に対して37倍量(重量)添加し浸漬した。浸漬液は蒸留水で10倍量に希釈後、遊離のタンパク質を280nmによる吸光度法で測定し、牛血清アルブミン検量線から薄膜に吸着したタンパク量を求めた。また、乾燥した薄膜(湿度35%条件、繊維径500nm-1000nm)についても1%牛血清アルブミン溶液を50倍量(重量)添加し浸漬し、10倍に希釈後、同様に、遊離のタンパク質を280nmによる吸光度法で測定し、牛血清アルブミン検量線から薄膜に吸着したタンパク量を求めた。

その結果、繊維径100nm-300nmの薄膜は乾燥薄膜1g当たり452mgの牛血清アルブミンを吸着し、繊維径500nm-1000nmの薄膜は乾燥薄膜1g当たり171mgの牛血清アルブミンを吸着した。繊維径の細い薄膜は繊維径の太い薄膜よりも約2.6倍量の吸着量が高かった。

【比較例】

【0032】

【比較例】

比較例として、一般に流通しているキトサン繊維(不織布)を入手したもので、繊維の直径は12-38 μm であった(図7)。

【産業上の利用可能性】

【0033】

本発明の静電紡糸法による多糖類のナノスケールの繊維およびその繊維によって構成された成形体は、安全性が高く、細胞毒性がなく、しかも比表面積が大きくなるので、医療分野、特に再生医療分野における医用材料として、生体組織培養の基材や生体材料(人工臓器、人工血管、人工骨等)の足場、および創傷被覆材等に利用できる。

【図面の簡単な説明】

【0034】

【図1】静電紡糸装置の概要

【図2】実施例1で得たキトサンの薄膜の原子間力顕微鏡(nanopics1000、セイコーインスツルメンツ(株))による像(倍率:1万倍、100 μm ×100 μm 、図中のバー:1.0 μm)

【図3】実施例2で得たキトサン/ポリエチレングリコールの薄膜の走査型電子顕微鏡(SM-200、(株)トプコン)による像(倍率:1万倍、10 μm ×10 μm 、図中のバー:1.0 μm)

【図4】実施例3で得たコンドロイチン硫酸/ポリエチレングリコールの薄膜の走査型電子顕微鏡(SM-200、(株)トプコン)による像(倍率:1万倍、10 μm ×10 μm 、図中のバー:1.0 μm)

【図5】実施例4で得たペクチン/ポリエチレングリコールの薄膜の走査型電子顕微鏡(SM-200、(株)トプコン)による像(倍率:1万倍、10 μm ×10 μm 、図中のバー:1.0 μm)

【図6】実施例5で得たキトサン/ポリビニルピロリドンの薄膜の走査型電子顕微鏡(SM-200、(株)トプコン)による像(倍率:1万倍、10 μm ×10 μm 、図中のバー:1.0 μm)

【図7】比較例に示した多糖類繊維(キトサン/湿式紡糸)の走査型電子顕微鏡(SM-200、(株)トプコン)による像(倍率:100倍、図中のバー:100 μm)

【符号の説明】

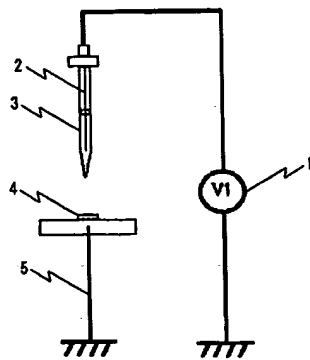
【0035】

1 電圧(加電圧を制御)

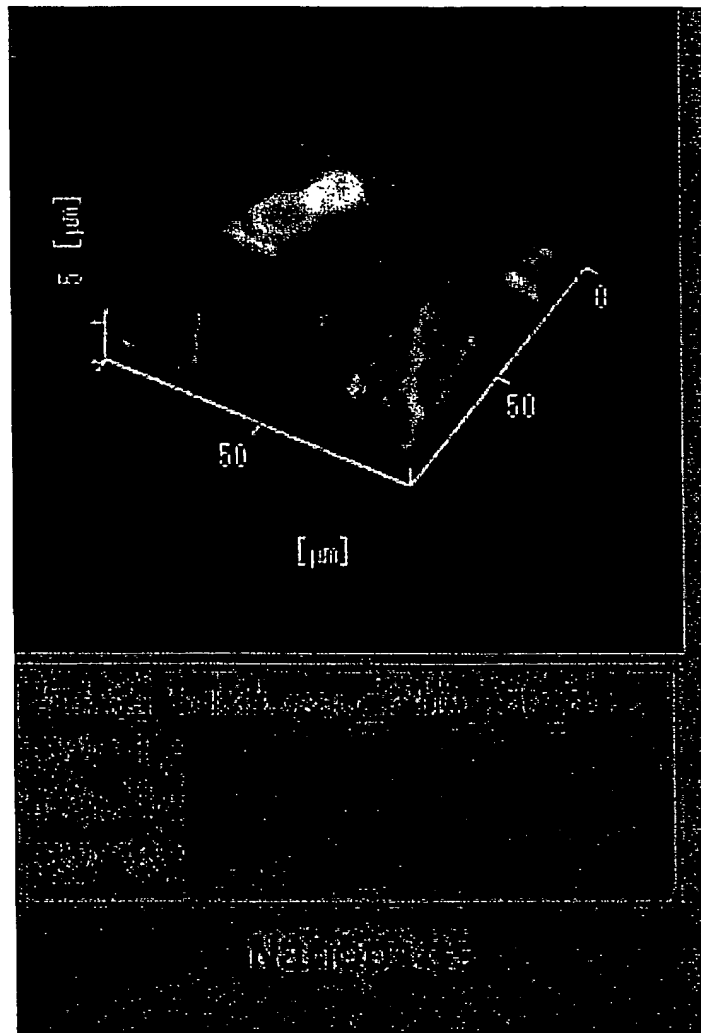
2 電極

- 3 キャピラリー
- 4 基板
- 5 アース

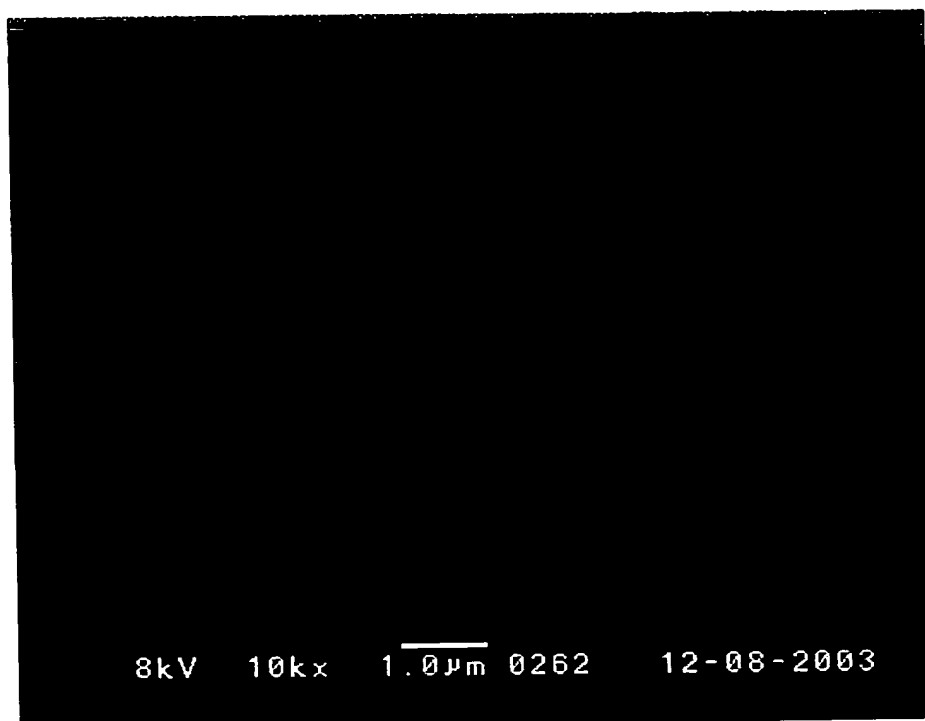
【図1】



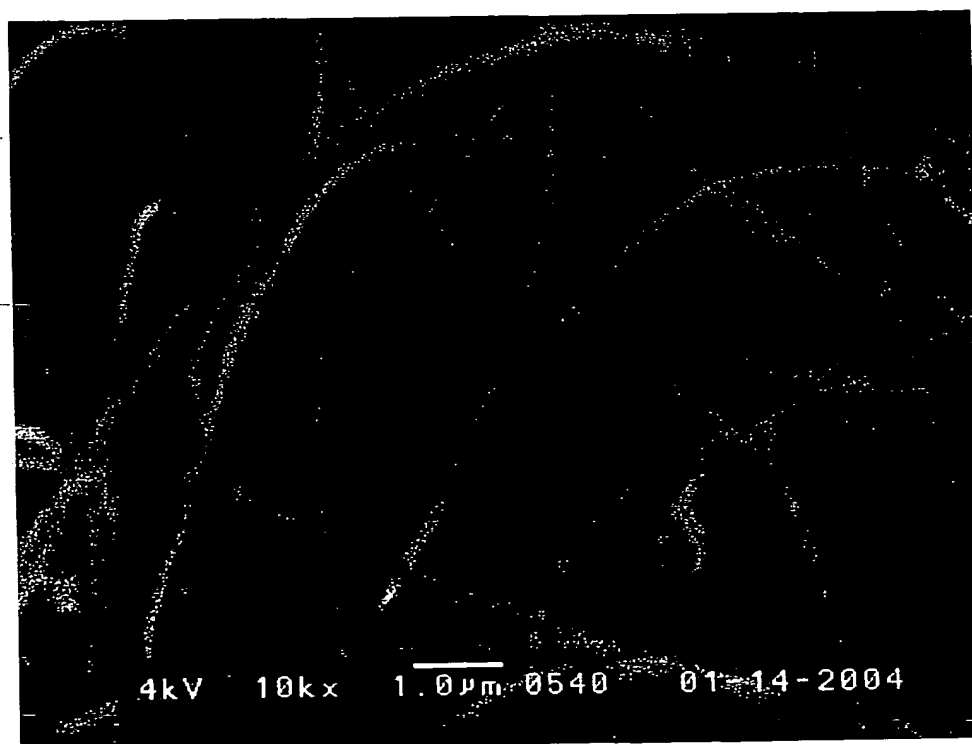
【図 2】



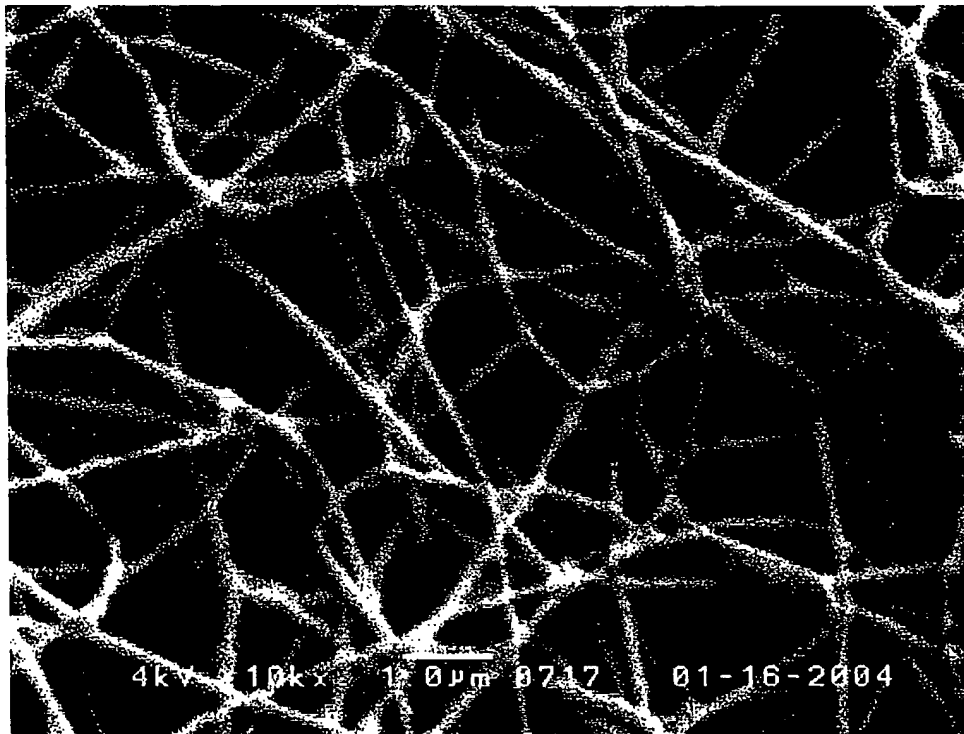
【図3】



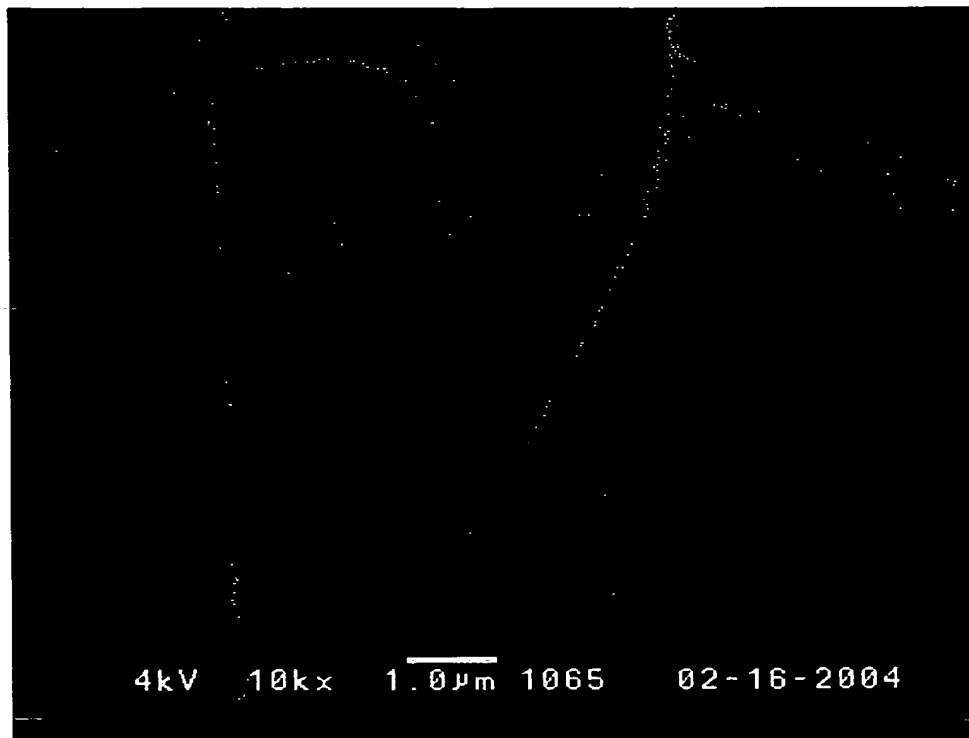
【図4】



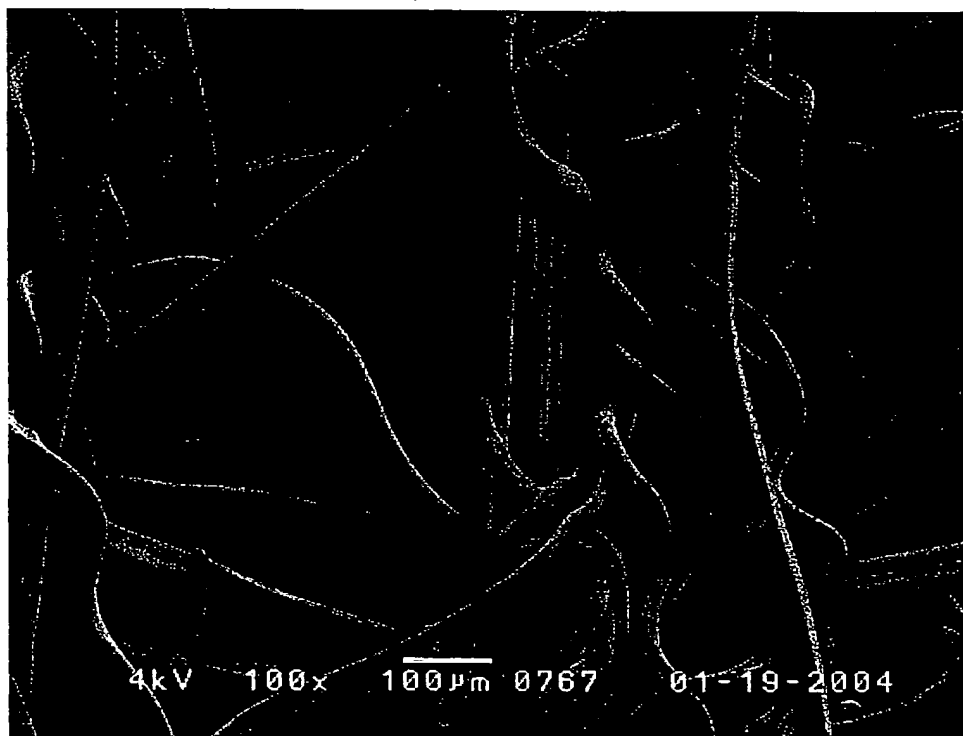
【図 5】



【図 6】



【図7】



フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
D 0 4 H 1/72	C 0 8 B 37/08	Z
	D 0 4 H 1/42	P
	D 0 4 H 1/72	C

(72)発明者 松本 英俊
神奈川県川崎市中原区市ノ坪180番3号-206

(72)発明者 皆川 美江
東京都港区高輪2丁目10番20号

(72)発明者 原 聖
埼玉県朝霞市朝志ヶ丘3丁目3番3号-101

(72)発明者 八子 博
東京都東大和市南街2丁目44番地1

(72)発明者 瀬尾 寛
埼玉県草加市清門町265番地2

Fターム(参考) 4C081 AA12 AA14 AB02 AB13 AB18 CD08 CD09 DA04 DA05 EA15
4C090 AA02 AA04 AA09 BA47 BA50 BA67 BD24 CA50 DA22
4L035 BB01 DD13 FF07
4L047 AA11 AB08 BA07 CC03 EA22

【要約の続き】

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☒ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.